

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **05252972 A**

(43) Date of publication of application: **05.10.93**

(51) Int. Cl

C12P 19/14
A21D 2/18
A23G 3/00
A23L 1/308
A23L 2/00
A23L 2/02
A61K 31/725
C08B 37/06

(21) Application number: **04027436**

(22) Date of filing: **20.01.92**

(71) Applicant: **JAPAN TOBACCO INC**

(72) Inventor: **YAMAGUCHI FUMIHIDE**
UCHIDA SETSUOKO
SHIMIZU NORIKO
MAEDA SUSUMU
HATANAKA CHITOSE

(54) LOW-MOLECULAR PECTIN AND FOOD AND DRINK COMPOUNDED WITH THE PECTIN

(57) Abstract:

PURPOSE: To obtain the subject compound having low viscosity, keeping the physiological activity as a dietary fiber and useful as an additive for food and drink having bowel movement regulating effect and cholesterol depressing action by treating pectin with an endo-type polygalacturonase.

CONSTITUTION: A microbial strain belonging to the genus *Kluyveromyces* [e.g. *Kluyveromyces fragilis* JTF-1 (FERM P-12565)] or *Geotrichum* [e.g. *Geotrichum candidum*

JTF-2 (FERM P-12670)] is cultured, the culture product is subjected to centrifugal separation to remove the cells and collect the supernatant as an endo-type polygalacturonase liquid, the liquid is mixed with a suspension of pectin such as lemon pectin suspended in 0.025M acetate buffer solution (pH4.8) and made to react at 40°C for 24hr, the obtained reaction liquid is concentrated and dialyzed by sing deionized water and the dialyzed product is subjected to freeze-drying to obtain the objective low-molecular pectin having low viscosity and high solubility and keeping the physiological activity as a dietary fiber.

COPYRIGHT: (C)1993,JPO&Japio

(19)日本国特許庁(J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-252972

(43)公開日 平成5年(1993)10月5日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 P 19/14		Z 7432-4B		
A 2 1 D 2/18				
A 2 3 G 3/00	1 0 1			
A 2 3 L 1/308				
2/00		G		

審査請求 未請求 請求項の数3(全10頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願平4-27436

(22)出願日 平成4年(1992)1月20日

(71)出願人 000004569

日本たばこ産業株式会社

東京都品川区東品川4丁目12番62号

(72)発明者 山口 文秀

神奈川県横浜市緑区梅が丘6番地2 日本

たばこ産業株式会社食生活研究所内

(72)発明者 内田 節子

神奈川県横浜市緑区梅が丘6番地2 日本

たばこ産業株式会社食生活研究所内

(72)発明者 清水 典子

神奈川県横浜市緑区梅が丘6番地2 日本

たばこ産業株式会社食生活研究所内

(74)代理人 弁理士 鈴江 武彦

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 低分子ペクチン及びこれを配合してなる飲食品

(57)【要約】

【目的】 本発明は、低粘度、高溶解性を有し、かつ食物繊維としての生理活性を保持した低分子ペクチン及びこれを配合した飲食品を提供することを目的とする。

【構成】 ペクチンに、エンド型ポリガラクトナーゼを作用させ、低分子ペクチンを得る。また、この低分子ペクチンは、飲食品に0.01～50重量%含有させることができる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ペクチンにエンド型ポリガラクトツロナーゼを作用させることにより得られる低分子ペクチン。

【請求項2】 前記エンド型ポリガラクトツロナーゼが、クルイペロマイセス属或いはゲオトリカム属から生産されることを特徴とする請求項1に記載の低分子ペクチン。

【請求項3】 請求項1又は2に記載の低分子ペクチンを0.01～50重量%含有することを特徴とする飲食品。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、ペクチンを食物繊維としての生理活性を保持したまま低分子化した低分子ペクチン及びこれを配合した飲食品に関する。

【0002】

【従来の技術】食物繊維は、人の消化酵素では消化されない食物中の難消化成分と定義付けられており、セルロース、リグニン、ペクチン等の植物細胞壁成分のみならず、広くキチンやキトサン等の不消化有機物を含むものである。近年、これらは、便秘改善効果をはじめ、血中コレステロール低下作用等の種々の作用を有し、成人病の予防などにも重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。

【0003】これら食物繊維の中でも、ペクチンやペクチン酸等のペクチン質は、食物繊維としての活性が高く、便秘改善、血中コレステロールレベルの上昇抑制効果、胆石形成の抑制効果、高血圧抑制効果など種々の効果が報告されている。従来、ペクチン質は、食品工業において、安定剤として、ジャム、フルーツゼリー、ドリンクヨーグルト、乳酸菌飲料などに用いられてきたが、以上のような効果を有することから、食品繊維として飲食品に添加することも期待される。

【0004】ペクチン質は、未熟の果実或いは植物体中でセルロースと結合して、プロトペクチンという複合体の形で存在し、特に、柑橘類、リンゴ、かりん等に多量に含まれている。このプロトペクチンは、不溶性であるが、果実が成熟すると加水分解されて可溶性のペクチン又はペクチン酸を生じる。

【0005】このうち、ペクチンは、ガラクトツロン酸のポリマーであるポリガラクトツロナンを主成分とし、ラムノース、アラビノース、キシロース、ガラクトースなどを微量に含む分子量200,000以上の多糖である。

【0006】ところが、一般に、ペクチンは、溶解性が低く、高粘度で、ゲル化能が強いという性質を有している。従って、ペクチンは、上記のような種々の効果を有するにもかかわらず、その性質故に、飲食品に少量しか添加できず、食物繊維としての活性が期待できるだけの量を飲食品に含有させることが困難であった。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】従って、本発明の課題は、低粘度、高溶解性を有し、かつ食物繊維としての生理活性を保持した低分子ペクチン、及びこの低分子ペクチンを含有する飲食品を提供することにある。

【0008】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決するために、本発明は、ペクチンにエンド型のポリガラクトツロナーゼを作用させることにより得られた低分子ペクチンを提供する。

10 【0009】エンド型ポリガラクトツロナーゼは、クルイペロマイセス属或いはゲオトリカム属から生産される。

【0010】また、本発明はこの低分子ペクチンを0.01～50重量%含有する飲食品を提供する。

【0011】以下本発明を詳細に説明する。

20 【0012】本発明者は、多くのペクチン分解酵素によるペクチンの分解様式を研究した結果、エンド型ポリガラクトツロナーゼは、これを分解限度までペクチンに作用させても、分解によるペクチンの分子量の低下は2万程度で止まり、それ以上の分解は進行せず、反応条件を制御することにより、2～8万程度の分子量を有する低分子ペクチンが得られることを見いだした。この分解生成物は、低分子化されている以外はペクチンと同様の生理活性を有する多糖、すなわち低分子ペクチンである。

【0013】この低分子ペクチンを得るに当たり、まず、ペクチンにエンド型ポリガラクトツロナーゼを作用させる。

30 【0014】本発明に用いられるペクチンとしては、いずれのペクチンも原料とすることができ、その起源を限定するものではない。従って、一般に知られているレモンペクチンやリンゴペクチンなど多くの果実由来のものをを用いることができる。

【0015】ペクチンにエンド型ポリガラクトツロナーゼを作用させるに当たっては、精製物、培養上清（粗酵素液）或いはその処理物のいずれを用いてもよい。

【0016】一般に、エンド型ポリガラクトツロナーゼは、細菌、微生物、高等植物等に存在するが、これらのいずれからのものでも精製して用いることができる。すなわち、上記微生物等の培養液から菌体を除去した培養上清を硫酸沈殿処理に供して蛋白質のみを塩析させ、これをイオン交換体を用いて電荷により分離し、更にゲル濾過によって分子量により分離するという一般の酵素精製工程により精製する。

【0017】また市販のペクチナーゼを用いてもよいが、この場合もペクチナーゼ中に存在するペクチンエステラーゼ及びヘミセルラーゼを除くために精製を要する。

50 【0018】ところで、クルイペロマイセス属、又はゲオトリカム属に属する酵母を用いると、精製処理を施すことなくその培養上清を直接酵素反応に使用できること

が分かった。クルイペロマイセス属、又はゲオトリカム属に属する酵母は、エンド型ポリガラクトナーゼのみに産生する能力を有する酵母であり、またエンド型ポリガラクトナーゼは体外に分泌される菌体外酵素であるので、これら酵母を用いると、その培養上清をそのまま粗酵素液として用いることができるのである。通常、これらの酵母を寒天培地で種培養し、これを更に本培養に供して大量培養し、得られた培養物を遠心分離し、菌体を除去することによって培養上清が得られる。そのような酵母の1つであるクルイペロマイセスフラギリス (*Kluyveromyces fragilis*) JTF-1は、微工研菌寄第12565号をもって、平成3年10月11日に、また、ゲオトリカムキャンディダム (*Geotricum candidum*) JTF-2は、微工研菌寄第12670号をもって、平成3年12月19日に工業技術院微生物工業技術研究所に寄託されている。

【0019】また、前記培養上清に透析、限外濾過、イオン交換、又はゲル濾過などの簡単な処理を施すのみで得られる透析処理培養上清を用いることはより好ましい。これらの処理により、イースト臭が除去でき、かつ液色を透明にすることができるからである。

【0020】このように、精製したエンド型ポリガラクトナーゼ、或いは本発明の特定の酵母を用いて得られた培養上清のいずれも用いることができるが、上記酵母を用いて得られた培養上清は、酵素反応に直接用いることができ、これにより酵素精製工程の簡略化を図ることができるのでより好ましい。

【0021】以上のようにして得られた精製物、培養上清、或いはその処理物を、ペクチンを酢酸等の緩衝液に懸濁した懸濁液と反応させることにより低分子ペクチンが得られる。

【0022】この酵素分解反応は、反応時間が12～48時間、ペクチン1重量部に対する酵母培養上清の量的割合が5～20重量部の条件下で行われることが好ましい。また、反応温度及びpHは、反応が十分に進行し、かつエンド型ポリガラクトナーゼが失活しない温度及びpH、すなわち30～60℃、pH3.0～5.0がそれぞれ好ましい。

【0023】この反応は分解限度で行ってもペクチンの分解は分子量2万程度で止まるが、上記反応時間等の反応条件を制御することにより、2～8万程度の範囲の任意の分子量を有する低分子ペクチンを得ることができる。

【0024】本発明の低分子ペクチンは、2～8万程度の分子量を有し得るが、食物繊維としての生理活性保持及び飲食品への添加容易性の観点から5～7万程度の分子量を有することが好ましい。最も好ましいのは6万程度の分子量を有する低分子ペクチンである。

【0025】このようにして得られたペクチンの分解物は、そのまま乾燥して使用してもよく、また、更に処理

を施してもよい。

【0026】更に処理を施す場合は、分解物中のガラクトロン酸やそのオリゴ糖、及び酵素反応時の緩衝液として使用した酢酸を除去するために透析、限外濾過などの精製工程を施し、その後、エタノール、アセトンなどの有機溶媒による沈殿工程、或いは凍結乾燥、噴霧乾燥などの乾燥工程により粉末化し使用に供する。

【0027】上記方法により得られた本発明の低分子ペクチンは、その分子量が食品添加物としての既存のペクチンやアガロースなどの多糖と、マルトオリゴ糖やフラクトオリゴ糖などのオリゴ糖の間に位置するものである。また、この低分子ペクチンは、元のペクチンに対してかなり低粘度であり、かつ溶解度が高いにもかかわらず、食物繊維の生理活性の1つである便通改善効果を保持している。

【0028】一方、本発明の低分子ペクチンは、上記性質を有することから、従来は不可能であった、食物繊維としての生理活性を保持できる程度の量、すなわち0.01～50重量%、好ましくは0.1～5重量%を、ジュース、キャンディー、食パン、ジャム等種々の飲食品に含有させることができる。

【0029】また、この本発明の低分子ペクチンを含有させた飲食品は、上記含有率をもってしても、既存のペクチンを添加した場合とは異なる改善された物性、食感を呈するものである。

【0030】

【実施例】以下に実施例を挙げて本発明の内容を更に詳細に説明する。

【0031】実施例における部及びパーセンテージはすべて重量を表す。

【0032】実施例1 レモン低分子ペクチンの調製及び分析

a) 粗酵素溶液の調製

クルイペロマイセスフラギリス JTF-1 をショ糖2%を含むジャガイモ煎汁寒天斜面培地 (pH5.0) で27℃、24時間培養した。その後、本菌体の1白金耳をブドウ糖5%、リン酸アンモニウム0.2%、リン酸1カリウム0.1%、硫酸マグネシウム0.1%及び酵母エキス0.4%を含む培地50ミリリットルに接種し、27℃で3日間静置培養した。この培養物を同じ組成の1リットルの培地に接種し、更に27℃で3日間静置培養した。この培養物を13,000rpmで10分間遠心分離し、菌体を除去して培養上清を得た。

【0033】b) レモン低分子ペクチンの調製

レモンペクチン (和光純薬工業) 100gを0.025M酢酸緩衝液 (pH4.8) 4リットルに懸濁し、これにa)で製造した培養上清1リットルを加え、40℃で24時間反応させた。得られた反応液をロータリーエバポレーターで濃縮後、試料溶液の100倍量の脱イオン水に対し一晩透析し、更に凍結乾燥することによりレモ

5

ン低分子ペクチン58.34gを得た。

【0034】c) レモン低分子ペクチンの分析
得られたレモン低分子ペクチンを下記(1)～(4)の測定に供した。

【0035】(1) 分子量の測定
レモン低分子ペクチンについて、TSK-G4000PWによるゲル濾過によってメインピークを測定し、プルラン(STANDARD P-82、昭和電工)を標準試料として分子量を算出した。

【0036】(2) ガラクツロン酸：中性糖の比の測定 * 10

6

*レモン低分子ペクチンを、ドリセラゼによって、完全に分解した後、Shodex SH-1821カラムによるHPLC分析により測定した(松橋、井上、畑中、日本農芸化学会誌、65、p399(1991))。

【0037】(3) 粘度の測定 1

まず、本発明のレモン低分子ペクチンの5%溶液を作製し、その粘度をE型粘度計により測定した。

【0038】以上(1)～(3)の結果を表1に示す。

【0039】

【表1】

表1

	低分子ペクチン (実施例1)
収率(%)	58.34
分子量	6.6×10^4
ガラクトン酸：中性糖	87.7 : 12.4
粘度(cpm)	15.97
5%水溶液の外観	黄褐色

(4) 粘度の測定 2

レモン低分子ペクチン及び、比較としてレモンペクチンの粘度をE型粘度計(50rpm)により測定した。この結果を図1に示す。これよりペクチンのかなりの低粘度化が認められた。

【0040】(5) 便通改善効果

4週齢のSD系雄性ラットを固形飼料(オリエンタル酵母固形飼料MF)で4日間飼育した後、これを5匹ずつ

4群に分けた。その後、それぞれの群に、下記表2に示す配合の飼料、及び固形飼料を与え、9日間飼育し、9日目の糞便を回収した。得られた結果を下記表3に示す。固形飼料の糞便の軟度を基準とし、硬化したものを-、軟化したものを+とした。

【0041】

【表2】

表2

成分 (%)	対 照 群	ペクチン群	低分子ペクチン群
カゼイン	22	22	22
ラード	9	9	9
コーン油	1	1	1
塩類混合	3.5	3.5	3.5
ビタミン混合	1	1	1
塩化コリン	0.2	0.2	0.2
コレステロール	1	1	1
胆汁酸	0.25	0.25	0.25
ペクチン	-	5	-
低分子ペクチン	-	-	5
ショ糖	63.3	58.3	58.3

*ペクチン及び低分子ペクチンは、レモンペクチン

(和光純薬工業) から調製した。

*低分子ペクチンは、実施例1 b) の方法で調製した。

【0042】

【表3】

表3

	固形飼料	対照群	ペクチン群	低分子 ペクチン群
軟化	0	-	+	+

以上の結果より、本発明の低分子ペクチンは、ペクチンと同様に便の軟化作用を持ち、便通改善に効果があることが分かった。

【0043】実施例2 低分子ペクチンの利用

a) 30%リンゴ果汁ジュース

実施例1において得られた低分子ペクチン1部に、5倍濃縮リンゴ果汁6部、グラニュー糖10部、DL-リンゴ酸0.2部、クエン酸3ナトリウム0.02部、及び蒸留水83部を混合して、最終的に低分子ペクチン1重量%を含有する30%リンゴ果汁ジュースを作製した。

【0044】低分子ペクチンを含有したジュースは、滑らかなネクター様の物性を呈した。

【0045】b) ハードキャンディー

実施例1において得られた低分子ペクチン1部を含む下記表4に示す組成原料を用いて以下の要領でアップルタイプハードキャンディーを作製した。

【0046】砂糖、水飴及び水を混合し、110℃まで加温した。少量の水に溶かした低分子ペクチンを加え、

147℃まで煮詰めた。クエン酸、香料及び色素を添加、混合し、冷却後、成型した。また対照としてペクチン1部を添加したものを作製して比較した。結果は下記表5にまとめて示す。

【0047】

【表4】

9
表4
配合

*【0048】
【表5】

砂糖	60部
水飴	40部
リンゴ果汁(5倍濃縮)	2部
水	17.5部
クエン酸	1部
香料	0.1部
色素	適量
低分子ペクチン	1部

10

*
表5

	外観	味	総合評価
低分子ペクチン 1%添加キャンディー	よく分散	甘酸味良好 まろやかな味	非常に 良好
ペクチン 1%添加キャンディー	ままこになり、 分散せず	酸味強く 異味もあり	不良

キャンディー原料にペクチンを1重量%添加するとペクチンがままこになり、良く分散しなかったのに対し、低分子ペクチンを同量添加した場合には、良く分散し、容易に加工することができた。またペクチン添加キャンディーが、酸味が強く、かつ異味があったのに対し、低分子ペクチンを添加したキャンディーは味も良好であった。

【0049】c) 食パン

下記表6に示す組成原料を用いて食パンを作製した。

【0050】実施例1において得られた低分子ペクチン2.5部をあらかじめ水に溶解させておき、ドライイーストを除いた下記表6に示す原料に混合した。この混合物をサンヨー製パン機(SPM-B1)のパンケースに投入し、ドライイーストを添加して混練、発酵させパンに焼き上げた。また、対照として、下記表6に示す原料組成より低分子ペクチンを除いたパンを焼き上げた。

【0051】

【表6】

表6
配合

強力粉	250部
砂糖	14部
食塩	3.5部
スキムミルク	6.8部
ショートニング	15部
ドライイースト	2.5部
水	180部
低分子ペクチン	2.5部

官能検査の結果を下記表7に示す。低分子ペクチンを約0.5重量%含有する食パン及び対照とも焼き上がりにほとんど差はなかったが、低分子ペクチン添加群のパンにソフト感が加わっていた。

【0052】

【表7】

表7

	外観及び味	総合評価
低分子ペクチン 0.5%含有 食パン	ややイースト臭強い コントロールに比べ軟らかい 褐色にむらなく焼き上がっている	良好
対照	食パンの香ばしい香り 褐色にむらなく焼き上がっている	良好

実施例3 リンゴ低分子ペクチンの調製

レモンペクチンのかわりにリンゴペクチン（和光純薬工業）を用いること以外は実施例1とまったく同じ方法で、リンゴ低分子ペクチンを調製した。分子量 6.0×10^4 の低分子ペクチンが調製できた。

【0053】実施例4 透析処理培養上清による低分子ペクチンの調製

実施例1の方法で調製した培養上清のかわりに、この培養上清1リットルを更に0.025M酢酸緩衝液（pH 4.8）300リットルに対し一晩透析して得た透析処理培養上清を用いる以外は実施例1と全く同じ方法で低分子ペクチンを調製した。分子量 6.6×10^4 の低分子ペクチンが調製できた。

【0054】実施例5 ゲオトリカムキャンディダムJTF-2による低分子ペクチンの調製

クルイペロマイセスフラギリスJTF-1のかわりにゲオトリカムキャンディダムJTF-2を用いる以外は実施例4と全く同じ方法で低分子ペクチンを調製した。分子量 6.0×10^4 の低分子ペクチンが得られた。

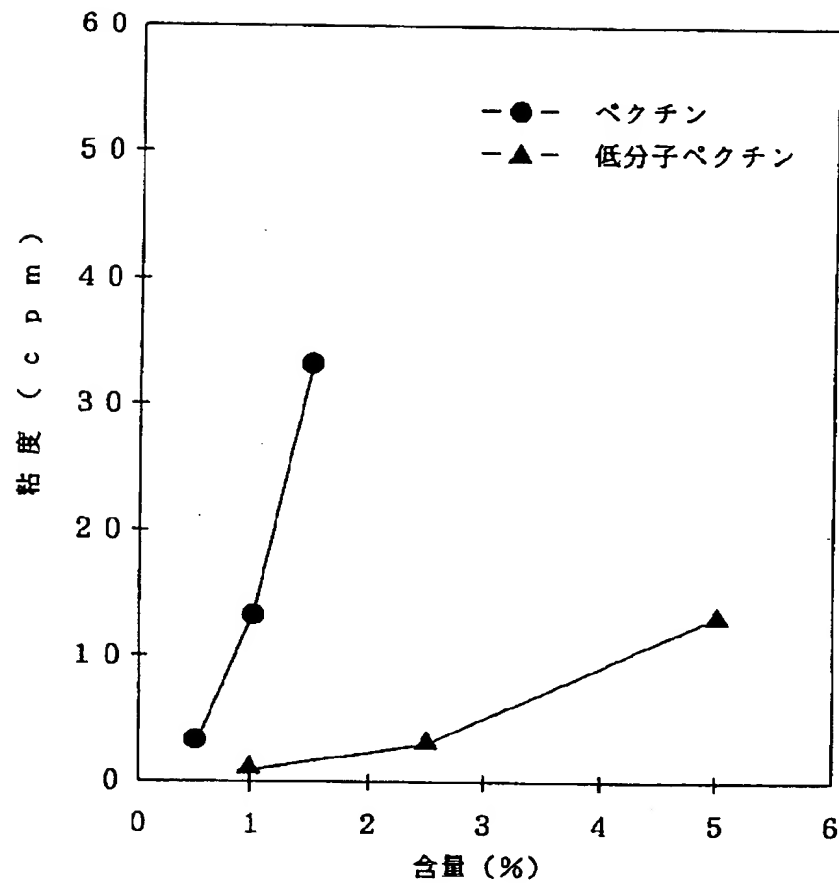
【0055】

【発明の効果】本発明により得られた低分子ペクチンは、低粘度、高溶解性であり、かつ便通改善などの食物繊維の生理活性を保持していることにより、飲食品に食物繊維としての生理活性を付加できる程度に容易に添加することができる。また、本発明の低分子ペクチンを含有する飲料、パンなどの飲食品は、改善された物性、食感などを有する。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の低分子ペクチンの粘度曲線を示す図。

【図1】



【手続補正書】

【提出日】平成4年11月27日

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0041

【補正方法】変更

【補正内容】

【0041】

【表2】

表2

成分	対照群	ペクチン群	低分子ペクチン群
	22 (g)	22 (g)	22 (g)
カゼイン	9	9	9
ラード	1	1	1
コーン油	3.5	3.5	3.5
塩類混合	1	1	1
ビタミン混合	0.2	0.2	0.2
塩化コリン	1	1	1
コレステロール	0.25	0.25	0.25
担汁酸	—	5	—
ペクチン	—	—	5
低分子ペクチン	—	—	—
ショ糖	63.3	58.3	58.3

*ペクチンおよび低分子ペクチンは、レモンペクチン

(和光純薬工業) から調製した。

*低分子ペクチンは、実施例1b)の方法で調製した。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0052

【補正方法】変更

*【補正内容】

【0052】

表7

	外観及び味	総合評価
低分子ペクチン 0.5%含有 食パン	ややイースト臭強い コントロールに比べ軟らかい 褐色にむらなく焼き上がっている	良好
対照	食パンの香ばしい香り 褐色にむらなく焼き上がっている	良好

実施例3 リンゴ低分子ペクチンの調製

レモンペクチンのかわりにリンゴペクチン（和光純薬工業）を用いること以外は実施例1とまったく同じ方法で、リンゴ低分子ペクチンを調製した。分子量 6.6×10^4 の低分子ペクチンが調製できた。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0054

【補正方法】変更

【補正内容】

【0054】実施例5 ゲオトリカムキャンディダム JTF-2 による低分子ペクチンの調製
クルイペロマイセスフラギリス JTF-1 のかわりにゲオトリカムキャンディダム JTF-2 を用いる以外は実施例4と全く同じ方法で低分子ペクチンを調製した。分子量 6.6×10^4 の低分子ペクチンが得られた。

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 2 3 L 2/02		C		
A 6 1 K 31/725	A C R	8314-4 C		
C 0 8 B 37/06		7433-4 C		

(72)発明者 前田 進
 神奈川県横浜市緑区梅が丘 6 番地 2 日本
 たばこ産業株式会社食生活研究所内

(72)発明者 畑中 千歳
 岡山県倉敷市中庄3120の4 番地